

## 유지의 알칼리 이성질화에 의한 Conjugated Linoleic Acid 농축물의 제조

김지호 · 신호선  
동국대학교 식품공학과

### Preparation of Conjugated Linoleic Acid Concentrate from Vegetable Oils by Alkali Isomerization

Ji-Ho Kim and Hyo-Sun Shin  
Department of Food Science and Technology, Dongguk University

#### Abstract

The optimal conditions of alkali isomerization to obtain conjugated linoleic acid (CLA) concentrate from vegetable oils which have antioxidant and anticarcinogenic properties were studied. The result of alkali isomerization of various vegetable oils indicated that CLA content of safflower oil which contains more linoleic acid than any other vegetable oils was the highest of all experimental vegetable oils. During alkali isomerization, the amount of *cis*-9, *trans*-11 CLA and total CLA content in safflower oil was the highest at 8~11% KOH concentration and 180~185°C. But heating time had no effect on CLA formation after 20~40 minutes. As a result of alkali isomerization of neutral lipid, glycolipid and phospholipid in safflower oil, CLA content of neutral lipid class was higher than any other lipid classes. By urea treatment and HPLC fractionation, total CLA content in alkali-isomerized safflower oil increased to 95.4% from 78.9%.

Key words : conjugated linoleic acid, safflower oil, alkali isomerization

#### 서 론

Conjugated linoleic acid(CLA)는 linoleic acid(*cis*-9, *cis*-12-octadecadienoic acid)의 위치 및 기하 이성질체들을 말한다<sup>(1)</sup>. Linoleic acid 중 공액형 이중결합의 기하 이성질체는 9, 11의 위치나 10, 12의 위치에 *cis*형과 *trans*형이 서로 조합되어 총 8개의 이성질체가 존재할 수 있으며, 특히 *cis*-9과 *trans*-11-, *trans*-10과 *cis*-12-, *trans*-9과 *trans*-11-, *trans*-10과 *trans*-12-octadecadienoic acid가 천연적으로 존재하는 전체 CLA 이성질체중 89% 이상을 차지하고 있다<sup>(2)</sup>.

CLA는 grilled ground beef에서 처음으로 분리되었는데, CLA는 7, 12-dimethylbenz( $\alpha$ )anthracene에 의해 발생하는 mouse의 skin carcinogenesis를 억제한다는 사실이 발표되면서 새로운 항암물질로 주목을 받기 시작하였다<sup>(3)</sup>. 그 후 CLA가 benzo( $\alpha$ )pyrene에 의해 발생하는 mouse forestomach neoplasia<sup>(4)</sup>와 dimethylbenz

( $\alpha$ )anthracene에 의해 발생하는 rat의 mammary tumor<sup>(5)</sup>를 억제한다는 사실이 발견되면서, CLA의 항암작용이 다시 한번 입증되었다. 특히 mammary tumor와 forestomach 세포조직을 떼어 분석한 결과 CLA의 8개의 이성질체 중 *cis*-9, *trans*-11-octadecadienoic acid만이 세포조직내 인지지방질과 incorporation을 한다는 사실을 발견하면서 이 *cis*-9, *trans*-11-octadecadienoic acid가 항암작용에 있어서 결정적인 역할을 한다는 사실이 밝혀졌다<sup>(4,5)</sup>.

한편, CLA는 linoleic acid/phosphate buffer/ethanol system에서  $\alpha$ -tocopherol보다도 강력하고, butylated hydroxytoluene과는 비슷한 수준의 항산화 효과가 있음이 보고되었다<sup>(6)</sup>. 이외에도 CLA는 rabbit을 대상으로 한 실험에서 혈액중의 total cholesterol과 LDL cholesterol, triglyceride를 현저하게 낮추어 동맥경화증의 발현을 억제시킨다는 것이 보고되었고<sup>(6)</sup>, chick과 rat, mouse등에서 immune stimulation의 catabolic effects를 방지시킨다는 사실이 보고되었다<sup>(7,8)</sup>. 이러한 기능 외에도 CLA는 chick과 rat, mouse등의 사료에 첨가되어 체지방을 22~70% 감소시키고, 대신 살코기의

Corresponding author: Hyo-Sun Shin, Department of Food Science and Technology, Dongguk University, Seoul 100-715, Korea

양을 3~14% 증가시키는 기능이 있다는 보고가 있다<sup>9)</sup>.

이상과 같이 CLA는 항산화 및 항암작용외에도 다양한 생리적인 기능과 면역체계의 독특한 기능을 나타내므로 앞으로 식품에 널리 이용될 것으로 기대된다. 이를 위해서는 고농도의 CLA 농축물을 대량 생산할 수 있어야 한다. 따라서 본 연구에서는 식물성 유지를 알칼리 이성질화시켜 고농도의 CLA 농축물을 얻기 위한 최적의 조건을 연구하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

본 실험에 사용한 홍화유(safflower oil), 들기름(perilla oil), 피마자유(castor oil), 옥수수유(corn oil), 대두유(soybean oil), 카놀라유(canola oil), 미강유(rice bran oil)는 시중에서 구입하였다.

### 유지의 알칼리 이성질화 및 CLA 정량

유지의 알칼리 이성질화는 AOAC법<sup>(10)</sup>과 Chin 등<sup>(11)</sup>의 방법에 따라 실시하였고, 이때 KOH의 농도는 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 15 및 20%로 하였고, 가열온도는 160, 170, 180, 185 및 190°C로 하였다. 가열시간은 10, 20, 30 및 40분에서 각각 알칼리 이성질화 하였을 때 CLA 생성의 최적조건을 검토하였다. CLA의 정량은 이성질화한 유지를 Shantha 등<sup>(12)</sup>의 방법에 따라 methylation한 후 GLC에 의하여 하였다. 이때 FID가 부착된 GC(model 5890, Hewlett-Packard, USA)를 사용하였고, 컬럼은 supelcowax-10 capillary column(0.75 mm I.D.×60 m length, 1.0 μm film thickness, Supelco, USA)을 사용하였다. 이때 oven 온도 250°C, injector 온도 240°C, detector 온도 250°C로 하였으며, 운반기체는 질소로 하여 유속은 5 ml/min로 하고, split ratio는 10:1로 하였다. CLA의 동정은 표준품의 머무름 시간 및 Shantha 등<sup>(12)</sup>의 크로마토그램의 CLA 피크와 비교하여 정하였고, 피크 면적은 기기에 연결된 적분계(model 3390A, Hewlett-Packard, USA)에 의하여 구하였다. CLA 함량은 내부표준물질(heneicosanoic acid methyl ester)의 면적과 각 피크의 면적비에 의해 유지 중의 mg으로 나타내었다.

### Lipid fractionation

CLA가 중성·당·인지지방질의 어느 lipid class에 주로 incorporation되어 있는가를 알기 위하여 silicic acid column chromatography에 의하여 lipid class를 분획한 후<sup>(13)</sup>, 그의 지방산 조성과 CLA 함량을 GLC에 의하여

정량하였다.

### CLA의 농축

알칼리 이성질화 시킨 유지를 urea inclusion complex를 형성하여 포화지방산과 단일 불포화지방산을 제거하였고<sup>(14)</sup>, 다시 HPLC fractionation시켜 CLA를 농축하였다<sup>(15)</sup>. CLA의 농축은 semipreparatory reversed-phase 컬럼인 stainless prep. nova-pak HR C18 컬럼(3.9 mm I.D.×300 mm length, Waters, USA)이 연결된 HPLC(model 600, Waters, USA)에 의하여 하였다. 이때 acetonitrile-water-acetic acid(90:10:0.1, v/v/v)의 용매를 사용하여 1 ml/min의 유속으로 용출시켰고, detector는 234 nm로 파장을 고정시킨 U/V/Visible detector(model 486, Waters, USA)를 사용하였다.

## 결과 및 고찰

### 유지 종류별 CLA의 생성량

지방산 조성이 상이한 식물성 유지 원료를 알칼리 이성질화 하였을 때 CLA 생성량을 측정된 결과는 Table 1과 같다.

원료 유지 g당 *cis*-9, *trans*-11 CLA와 총 CLA의 생성량은 홍화유를 알칼리로 이성질화 하였을 때 각각 227.7 mg과 545.5 mg으로 가장 높았다. 또한 CLA 생성량은 linoleic acid 함량이 높은 홍화유, 옥수수유, 대두유에서 비교적 높게 나타났다. 한편 원료 유지중의 linoleic acid의 함량과 total CLA 생성량의 비(R)를 측정된 결과 홍화유와 옥수수유의 경우 0.85로 가장 높았고, 피마자유가 0.63으로 가장 낮았다. 따라서 유지를 알칼리 이성질화에 의해 CLA를 생성하고자 할 때는 원료 유지중의 linoleic acid의 함량과 CLA의 생성량이 서로 비례하므로 홍화유와 같이 linoleic acid의 함량이 높은 것을 선택할 필요가 있다. Nichols 등<sup>(16)</sup>

**Table 1. Formation amount of CLA from vegetable oils with alkali isomerization**  
(unit : mg/g in oil)

| Oils          | CLA isomers                   |                                |        | Total CLA | Linoleic acid | R <sup>1)</sup> |
|---------------|-------------------------------|--------------------------------|--------|-----------|---------------|-----------------|
|               | <i>c</i> -9,<br><i>t</i> -11- | <i>t</i> -10,<br><i>c</i> -12- | Others |           |               |                 |
| Safflower oil | 227.7                         | 255.1                          | 62.7   | 545.5     | 639.1         | 0.85            |
| Corn oil      | 162.2                         | 190.3                          | 32.2   | 384.7     | 452.5         | 0.85            |
| Soybean oil   | 139.3                         | 167.3                          | 51.3   | 357.9     | 423.9         | 0.84            |
| Rice bran oil | 98.1                          | 114.2                          | 37.8   | 250.1     | 322.9         | 0.77            |
| Rapeseed oil  | 59.5                          | 59.8                           | 43.0   | 162.3     | 220.1         | 0.74            |
| Perilla oil   | 31.8                          | 36.2                           | 10.8   | 78.8      | 119.2         | 0.66            |
| Castor oil    | 10.1                          | 10.8                           | 4.4    | 25.3      | 39.8          | 0.63            |

<sup>1)</sup>The ratio of total CLA to linoleic acid.

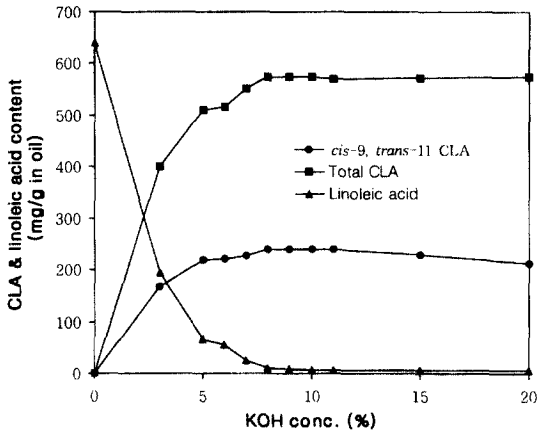


Fig. 1. Changes of CLA and linoleic acid contents in safflower oil by alkali isomerization with different KOH concentration.

은 linoleic acid를 알칼리 이성질화 시킬 경우 CLA가 생성되며, 이때 cis-9, trans-11 CLA와 trans-10, cis-12 CLA가 주로 형성된다고 보고하였다.

CLA 생성량에 대한 KOH의 영향

알칼리 이성질화에 사용한 원료 유지 중 CLA 생성량이 가장 높았던(Table 1) 홍화유를 KOH의 농도를 달리하여 알칼리 이성질화를 시켰을 때 cis-9, trans-11 CLA와 총 CLA 생성량과 linoleic acid의 변화를 측정 한 결과는 Fig. 1과 같다.

KOH의 농도를 3%에서 8%까지 증가함에 따라 cis-9, trans-11 CLA와 총 CLA의 생성량은 서서히 증가 하였으며 8%에서 11% 농도에서는 그 생성량이 거의 일정하였다. 그러나 KOH 농도 15% 이상에서는 CLA의 생성량은 소량 감소하였다. 이와 같이 KOH 농도를 11%까지 증가함에 따라 cis-9, trans-11 CLA와 총 CLA의 생성량은 크게 증가하였고 상대적으로 linoleic acid 함량은 큰 폭으로 감소되었다. 이와 같은 KOH의 농도 변화에 따른 CLA 생성량의 증가와 linoleic acid 함량의 감소로부터 linoleic acid가 알칼리 이성질화에 의해 CLA로 이성질화됨을 알 수 있었다. 따라서 홍화유를 알칼리 이성질화할 때 KOH의 농도를 8~11%로 하였을 때 cis-9, trans-11 CLA와 총 CLA 생성량이 가장 높은 최적 농도였다.

CLA 생성량에 대한 가열온도와 시간의 영향

홍화유를 10%의 KOH 농도에서 가열온도를 달리하여 알칼리 이성질화를 시켰을 때 cis-9, trans-11 CLA와 총 CLA의 생성량은 Table 3과 같다.

Table 2. Effect of heating temperature on CLA formation in safflower oil by alkali isomerization with 10% KOH concentration (unit : mg/g in oil)

| Temperature (°C) | cis-9, trans-11 CLA | Total CLA |
|------------------|---------------------|-----------|
| 160              | 210.8               | 504.5     |
| 170              | 230.9               | 563.1     |
| 180              | 239.2               | 573.3     |
| 185              | 238.9               | 572.8     |
| 190              | 235.4               | 574.3     |

Table 3. Effect of heating time on CLA formation in safflower oil by alkali isomerization with 10% KOH concentration for 180°C (unit : mg/g in oil)

| Time (min.) | cis-9, trans-11 CLA | Total CLA |
|-------------|---------------------|-----------|
| 10          | 216.2               | 510.5     |
| 20          | 239.2               | 573.3     |
| 30          | 240.1               | 574.7     |
| 40          | 239.5               | 570.2     |

가열온도를 160°C에서 180°C로 상승시킴에 따라 cis-9, trans-11 CLA와 총 CLA의 생성량은 서서히 증가 하였으나 그 증가는 미소하였으며 180°C 이상의 온도에서는 CLA의 생성량은 일정하였다. 이에 따라 가열 온도는 유지의 알칼리 이성질화때 CLA 생성량에 영향을 미치는 하나의 인자임을 알 수 있었고, 홍화유를 알칼리 이성질화 할 때 cis-9, trans-11 CLA와 총 CLA 생성량을 높이기 위해서는 가열온도가 180°C일 때 가장 알맞는 것을 알 수 있었다. 한편, 홍화유를 KOH 10%의 농도, 180°C의 가열온도에서 가열시간을 달리하여 알칼리 이성질화 시킬 때 cis-9, trans-11 CLA와 총 CLA의 생성량은 Table 3과 같다.

가열시간이 10~20분 사이에서는 cis-9, trans-11 CLA와 총 CLA의 생성량이 다소 증가하는 경향을 보였으나, 40분 이상에서는 증가하지 않았다. 따라서 알칼리 이성질화때 가열시간은 CLA 생성에 큰 영향을 미친다고 볼 수 없었고, 180°C에서 20~30분의 가열이 cis-9, trans-11 CLA와 총 CLA가 가장 많이 생성되는 최적 조건이었다.

Lipid class의 알칼리 이성질화에 의한 CLA의 함량

Silicic acid column chromatography로 분획한 홍화유의 중성, 당 및 인지지방질 lipid class를 알칼리 이성질화 시켰을 때 총 CLA와 주된 지방산 조성을 정량한 결과는 Table 4와 같다.

알칼리 이성질화한 홍화유의 중성, 당 및 인지지방질 획분의 지방산 조성은 각각 CLA가 주요 지방산이었고, 그 외 palmitic, stearic, oleic, linoleic acid 등으로 구성되어 있었다. 지방질 획분중 중성 지방질 획분에

**Table 4. Major fatty acid composition of lipid classes in alkali-isomerized safflower oil (%)**

| Lipid classes | Total CLA                   | C16:0 | C18:0 | C18:1 | C18:2 |
|---------------|-----------------------------|-------|-------|-------|-------|
| Total lipid   | 78.92 (29.92) <sup>1)</sup> | 5.55  | 2.35  | 11.30 | 1.70  |
| Neutral lipid | 77.56 (29.45)               | 5.85  | 3.17  | 12.63 | 1.41  |
| Glycolipid    | 73.79 (25.88)               | 8.76  | 3.65  | 13.80 | 0.59  |
| Phospholipid  | 58.55 (20.96)               | 22.22 | 5.13  | 11.11 | 2.99  |

<sup>1)</sup>Figure in parentheses means concentration of *cis*-9, *trans*-11 CLA in major fatty acid.

서 *cis*-9, *trans*-11 CLA와 총 CLA의 함량이 각각 29.92%와 78.92%로 세 가지 지방질획분중 가장 높았다. 당지방질획분중의 CLA 함량은 중성 지방질획분중의 CLA 함량보다 약간 낮았으며 인지지방질획분중의 CLA 함량은 중성 지방질 및 당지방질획분중의 CLA 함량보다 매우 낮았다. 또한 중성 지방질획분중의 CLA 함량은 총지방질 중의 CLA 함량과 거의 일치하였다.

Cohen 등<sup>(17)</sup>은 *Porphyridium cruentum*으로부터 추출한 지방질을 silica gel column chromatography로 분획하여 중성, 당 및 인지지방질 lipid class의 지방산 조성을 분석하였는데 이때 당지방질획분중의 eicosapentaenoic acid(EPA) 함량이 총지방질의 EPA 함량보다 높아 이를 분획하여 EPA 농축물을 얻을 수 있었다고 보고하였다. 그러나 본 연구에서는 홍화유를 알칼리 이성질화 시킨 총지방질과 중성 지방질획분중의 CLA 함량이 서로 같으므로 silicic acid column chromatography에 의해 lipid class를 분획할 필요가 없음을 알 수 있었다.

#### 요소처리에 의한 CLA의 농축

알칼리 이성질화 시킨 홍화유를 요소처리하기 전후의 CLA 함량을 측정된 결과는 Table 5와 같다.

알칼리 이성질화시킨 홍화유중에는 포화 지방산인 palmitic acid와 stearic acid가 존재하는데 이들은 요소 처리에 의해 palmitic acid는 5.55%에서 0.94%로 감소하였고, stearic acid의 경우는 완전히 제거되었다. 또한 단일 불포화 지방산인 oleic acid도 미량 감소함을 볼 수 있었다. 이에 따라 *cis*-9, *trans*-11 CLA와 총 CLA의 농도가 각각 38.08%와 86.03%까지 상대적으로 증가하였다. 한편 요소처리때의 저장온도를 4°C와 -15°C에서 실시하였을때, 이들 두 저장온도에 의한 CLA 농축효과는 큰 차이를 나타내지 않았다.

Cohen 등<sup>(17)</sup>은 *Porphyridium cruentum*으로부터 EPA 농축물을 제조할 때 요소처리와 reversed-phase chromatography에 의해 97%의 EPA 농축물을 얻을 수 있었다고 보고하였다. 본 연구에서는 이들 연구에서 보다 낮게 농축되었으나 알칼리 이성질화 시킨 홍화유로부터 CLA 농축물을 제조할때도 요소처리가 적당한 하나의 방법임을 알 수 있었다.

#### HPLC fractionation에 의한 CLA의 농축

알칼리 이성질화 시킨 홍화유를 요소처리한 뒤 HPLC fractionation하기 전후의 CLA 함량을 측정된 결과는 Table 6과 같다.

알칼리 이성질화 후 요소처리한 홍화유중에는 palmitic acid와 stearic acid가 미량 존재하는데 이들은 HPLC fractionation에 의해 완전히 제거되었고 이에 따라 *cis*-9, *trans*-11 CLA는 40.48%, total CLA는 95.39%까지 증가하였다. 그러나 linoleic acid는 HPLC fractionation 시 CLA와 함께 용출되어 총지방산 중 linoleic acid의

**Table 5. Fatty acid composition of alkali-isomerized safflower oil before and after urea treatment (%)**

|  | Total CLA                   | C16:0 | C18:0 | C18:1 | C18:2 |
|--|-----------------------------|-------|-------|-------|-------|
| Before alkali isomerization                | -                           | 5.08  | 2.10  | 10.36 | 80.33 |
| After alkali isomerization                 | 78.92 (29.92) <sup>2)</sup> | 5.55  | 2.35  | 11.3  | 1.70  |
| After urea treatment (4°C) <sup>1)</sup>   | 86.03 (38.08)               | 0.94  | -     | 8.69  | 3.90  |
| After urea treatment (-15°C) <sup>1)</sup> | 85.86 (39.20)               | 1.37  | -     | 9.76  | 2.16  |

<sup>1)</sup>Storage temperature.

<sup>2)</sup>Figure in parentheses means concentration of *cis*-9, *trans*-11 CLA in major fatty acid.

**Table 6. Fatty acid composition of alkali-isomerized safflower oil by HPLC fractionation (%)**

|  | Total CLA                   | C16:0 | C18:0 | C18:1 | C18:2 |
|--|-----------------------------|-------|-------|-------|-------|
| Before alkali isomerization              | -                           | 5.08  | 2.10  | 10.36 | 80.33 |
| After alkali isomerization               | 78.92 (29.92) <sup>2)</sup> | 5.55  | 2.35  | 11.3  | 1.70  |
| After urea treatment (4°C) <sup>1)</sup> | 86.03 (38.08)               | 0.94  | -     | 8.69  | 3.90  |
| After HPLC fractionation                 | 95.39 (40.48)               | -     | -     | -     | 4.61  |

<sup>1)</sup>Storage temperature.

<sup>2)</sup>Figure in parentheses means concentration of *cis*-9, *trans*-11 CLA in major fatty acid.

함량은 4.61%로 약간 증가하였다.

Traitler 등<sup>(18)</sup>은 blackcurrant seed oil을 요소처리와 HPLC fractionation시켜  $\gamma$ -linolenic acid(GLA) 농축물을 제조하였는데, 이때 95%까지 농축되었다고 보고하였다. 본 연구에서도 이들 연구결과와 같이 알칼리 이성질화 후 요소처리한 홍화유로부터 CLA 농축물 제조시에도 HPLC fractionation이 적당한 방법임을 알 수 있었다.

## 요 약

항산화 및 항암 작용이 있는 것으로 알려진 conjugated linoleic acid(CLA)를 식물성 유지로부터 알칼리 이성질화에 의해 고 농도의 CLA 농축물을 얻기 위한 최적 조건을 연구하였다. 지방산 조성이 상이한 식물성 유지를 알칼리 이성질화 하였을 때 CLA 생성량은 유지중 linoleic acid 함량이 많은 것이 가장 높았다. 홍화유를 알칼리 이성질화할 때 KOH 농도는 8~11%, 가열온도는 180~185°C에서 *cis*-9, *trans*-11 CLA와 총 CLA 생성량이 가장 높았고, 가열시간은 CLA 생성량에 큰 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. 홍화유를 silicic acid column chromatography에 의해 중성, 당 및 인지방질의 lipid class를 분획하여 알칼리 이성질화를 시켰을 때 중성지방질의획분에 CLA가 가장 많이 함유되었다. 알칼리 이성질화시킨 홍화유를 요소처리와 HPLC 분획에 의해 95.4%의 CLA 농축물을 얻을 수 있었다.

## 문 헌

1. Parodi, P.W. Conjugated linoleic acid: An anticarcinogenic fatty acid present in milk fat-A review. *Aust. J. Dairy Technol.* 49: 93-97 (1994)
2. Ha, Y.L., Grimm, N.K. and Pariza, M.W. Newly recognized anticarcinogenic fatty acids: Identification and quantification in natural and processed cheeses. *J. Agric. Food Chem.* 37: 75-81 (1989)
3. Ha, Y.L., Grimm, N.K. and Pariza, M.W. Anticarcinogens from fried ground beef: Heat-altered derivatives of linoleic acid. *Carcinogenesis* 8: 1881-1887 (1987)
4. Ha, Y.L., Storkson, J. and Pariza, M.W. Inhibition of benzo(a)pyrene-induced mouse forestomach neoplasia by conjugated dienoic derivatives of linoleic acid. *Cancer Res.* 50: 1097-1101 (1990)
5. Ip, C., Chin, S.F., Scimeca, J.A. and Pariza, M.W. Mammary cancer prevention by conjugated dienoic derivative of linoleic acid. *Cancer Res.* 51: 6118-6124 (1991)
6. Lee, K.N., Kritchevsky, D. and Pariza, M.W. Conjugated linoleic acid and atherosclerosis in rabbits. *Atherosclerosis* 108: 19-25 (1994)
7. Cook, M.E., Miller, C.C., Park, Y. and Pariza, M.W. Immune modulation by altered nutrient metabolism: Nutritional control of immune-induced growth depression. *Poultry Sci.* 72: 1301-1305 (1993)
8. Miller, C.C., Park, Y., Pariza, M.W. and Cook, M.E. Feeding conjugated linoleic acid to animals partially overcomes catabolic responses due to endotoxin injection. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 198: 1107-1112 (1994)
9. Park, Y., Albright, K.J., Liu, W., Storkson, J.M., Cook, M.E. and Pariza, M.W. Effect of conjugated linoleic acid on body composition in mice. *Lipids* 32: 853-858 (1997)
10. AOAC. Official Methods of Analysis, 16th. ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA (1995)
11. Chin, S.F., Liu, W., Storkson, J.M., Ha, Y.L. and Pariza, M.W. Dietary sources of conjugated dienoic isomers of linoleic acid, a newly recognized class of anticarcinogens. *J. Food Com. Anal.* 5: 185-197 (1992)
12. Shantha, N.C., Decker, E.A. and Hennig, B. Comparison of methylation methods for the quantitation of conjugated linoleic acid isomers. *J. AOAC Int.* 76: 644-649 (1993)
13. Marinetti, G.V. *Lipid Chromatographic Analysis*, Vol. 1, p.116. Marcel Dekker, Inc., New York, USA (1967)
14. Christie, W.W. *Lipid Analysis*, 2nd. ed., p.91. Pergamon Press, Inc., New York, USA (1982)
15. Werner, S.A., Lueddecke, L.O. and Shultz, T.D. Determination of conjugated linoleic acid content and isomer distribution in three cheddar-type cheeses. Effects of cheese cultures, processing and aging. *J. Agric. Food Chem.* 40: 1817-1821 (1992)
16. Nichols, P.L., Jr., Herb, S.F. and Riemenschneider, R.W. Isomers of conjugated fatty acids. I. Alkali-isomerized linoleic acid. *J. Am. Chem. Soc.* 73: 247-252 (1951)
17. Cohen, Z. and Cohen, S. Preparation of eicosapentaenoic acid (EPA) concentrate from *Porphyridium cruentum*. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 68: 16-19 (1991)
18. Traitler, H., Wille, H.J. and Studer, A. Fractionation of blackcurrant seed oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 65: 755-760 (1988)

(1999년 7월 30일 접수)